

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра медико-биологических систем и комплексов

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

« _____ » _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

**Модель рианодиновой регуляции кальциевого гомеостаза
в астроцитах**

03.04.02 Физика

03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной медицины и
медицинского оборудования

Научный руководитель _____

Выпускник _____

Рецензент _____

Красноярск 2019

РЕФЕРАТ

Магистерская работа по теме «Модель рианодиновой регуляции кальциевого гомеостаза в астроцитах» содержит 48 страниц текстового документа, 64 использованных источников, 12 рисунков, 3 таблицы, 4 приложения.

КАЛЬЦИЙ – СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, АСТРОЦИТ, РИАНОДИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР, ГЛУТАМАТНЫЕ СТИМУЛЫ, СПОНТАННЫЕ КОЛЕБАНИЯ.

Целью работы является создание математической модели рианодиновой регуляции кальциевого гомеостаза астроцита.

В работе были смоделированы кальций – сигнальные пути астроцита, вносящие наибольший вклад в общий кальций – сигнальный поток. Так в модель были включены следующие пути: потенциал – зависимый канал (VGCC); эндоплазматический ретикулумный (ЭПР) Ca^{2+} АТФазный канал (SERCA); плазматический Ca^{2+} АТФазный канал (PMCA); глутаматный рецептор (mGluR5); инозитол 1,4,5 трис-фосфатный рецептор (IP3R) и рианодиновый рецептор (RyR). Составлена математическая модель астроцита с выбранными кальций-сигнальными путями, были определены параметры. Включение RyR регуляции позволило снять противоречия между существующими моделями динамики цитозольного Са в астроцитах. RyR позволяет оценить эффект глутаматного стимула на спонтанные осцилляции Са в цитоплазме. Было проведено сравнение полученной модели с четырьмя базовыми математическими моделями: совмещение спонтанных осцилляций кальция с осцилляциями от глутаматных стимулов позволило убрать недостатки существующих моделей.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	6
1.1 Кальций – сигнальные пути астроцита.....	7
1.2 Математические модели астроцита.....	10
1.2.1 Математическая модель кальций-сигнальных путей Риера.....	10
1.2.2 Математическая модель кальций-сигнальных путей Лаврентовича и Хемкина.....	13
1.2.3 Математическая модель кальций-сигнальных путей Дюпонта.....	14
1.2.4 Математическая модель кальций-сигнальных путей Де Питты.....	17
1.3 Параметры моделей.....	19
1.4 Модель VGCC, RyR и PMCA.....	20
ГЛАВА 2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	25
2.1 Описание математической модели.....	25
2.2 Условия исследования.....	25
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	28
3.1 Спонтанные колебания кальция в цитозоле.....	28
3.2 Глутаматная стимуляция колебаний цитозольного кальция.....	30
3.3 Сравнение модели астроцита с базовыми моделями.....	32
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	35
СПИСОК ИСТОЧНИКОВ.....	36
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Параметры модели Де Питты и настоящей модели.....	43
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Параметры модели Риера и др.....	45
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Параметры модели Лаврентовича и Хемкина.....	46
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Параметры модели Дюпонта.....	47

ВВЕДЕНИЕ

Астроцит является невозбуждаемой клеткой головного мозга, которая контролирует химическую среду вокруг нервных клеток (нейронов) и участвует в иммунных реакциях на нервную ткань. Астроцит имеет сложную физиологию, а также выполняет множество функций. Потому экспериментальное изучение механизмов взаимодействия имеет множество сложностей. Для изучения определенного механизма выключают определенные пути с помощью блокаторов.

Одним из методов изучения гомеостаза астроцита является математическое моделирование кальций сигнальных путей. В модель включаются пути, вносящие наибольший вклад в общий кальций – сигнальный поток, что позволяет получить чистый сигнал.

Существующие основные четыре модели астроцита не учитывают некоторые существенные механизмы, такие как ионные токи клеточной мембраны и различные внутриклеточные сигнальные каскады [36 - 38]. Так, в моделях отсутствует рианодиновый рецептор, влияющий на процесс кальций индуцированного высвобождения кальция.

Есть доказательства того, что рианодиновый путь в динамике кальция активируется сильным стимулом или при патологии [1]. Существуют данные, что вклад RyR в динамику Ca^{2+} в астроцитах существенен [3]. В то же время некоторые авторы сообщали о не существенном влиянии RyR на динамику Ca^{2+} в астроцитах [44].

Целью работы является создание математической модели рианодиновой регуляции кальциевого гомеостаза астроцита.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи исследования:

1. Из источников литературы выделить Ca – сигнальные пути астроцита. Определить по кинетическим характеристикам пути, вносящие вклад в общий поток кальция;

2. Составить математическую модель кальций – сигнальных путей с вкладами в общий поток кальция;
3. Оценить влияние рианодинового рецептора на спонтанные колебания и колебания кальция от глутаматного стимула;
4. Сравнить полученную модель с четырьмя базовыми математическими моделями.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Астроцит – это тип нейроглиальной невозбуждаемой клетки. Регуляция клеточных процессов астроцита осуществляется с помощью кальция и глутамата [39, 51]. Совокупность астроцитов (астроглия) выполняет ряд важных функций [6, 22]:

- опорная и разграничительная – поддерживают нейроны и разграничивают их в группы;
- трофическая – регулирование состава межклеточной жидкости;
- участие в росте нервной ткани в период эмбрионального развития;
- репаративная – преобразовываются в нейроны при повреждении нервной ткани;
- гомеостатическая функция — извлечение глутамата и ионов калия из синаптической щели после передачи сигнала между нейронами;
- гемато - энцефалический барьер — астроциты служат специфическим «шлюзом» между кровеносным руслом и нервной тканью, не допуская их прямого контакта;
- регуляция активности нейронов - астроглия способна высвобождать нейротрансмиттеры.

В астроцитах существует целый ряд Ca^{2+} сигнальных путей. Каждый путь имеет свои кинетические характеристики скорости и мощности потока. Среди известных путей был произведен отбор по характеристикам путей, дающие наибольший вклад в общий кальций – сигнальный поток астроцита. Так, получен следующий набор каналов: потенциал – зависимый канал (VGCC); эндоплазматический ретикулумный (ЭПР) Ca^{2+} АТФазный канал (SERCA); плазматический Ca^{2+} АТФазный канал (PMCA); глутаматный рецептор (mGluR5); инозитол 1,4,5 трис-фосфатный рецептор (IP3R) и рианодинный рецептор (RyR) [16, 60].

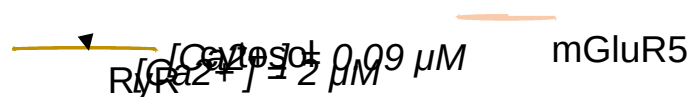


Рисунок 1 – карта кальций – сигнальных путей астроцита

Концентрация ионов кальция отличается как в астроците (и в цитозоле, и в ЭПР) и межклеточном пространстве, так и в органеллах нейрона [2]. Однако, кальций является токсичным для клетки, поэтому существует необходимость в регулировании концентрации данных ионов [55].

1.1 Кальций – сигнальные пути астроцита

Потенциал - зависимые каналы

Так как астроцит – не возбудяемая клетка, то поступление кальция через потенциал-зависимый канал осуществляется спонтанно. Существуют различные типы VGCC: канал нервного типа (N-типа), канал резистентного типа (R-типа), канал типа Пуркинью (P / Q-типа), канал скоротечного типа (Т-типа) и канал долгоиграющего типа (L-типа) [54]. Каналы N-типа чаще всего встречаются во всем мозге и периферической нервной системе. R-тип каналов

встречаются в гранулярных клетках мозга и других нейронах. P / Q-тип каналов характерен для клеток Пуркинье мозжечка, T-тип встречается в нейронах, клетках, обладающих кардиостимуляционной активностью, а также в остеоцитах. Каналы L-типа расположены в: скелетных мышцах, гладких мышцах, костях (остеообластах), кардиомиоцитах желудочков (ответственных за потенциал длительного действия в сердечной клетке, дендритах и дендритных иглах кортикальных нейронов). Хотя каналы разных типов VGCC гомологичны, но не идентичны и различаются по своим физиологическим ролям и моделируются с помощью уравнений Ходжкина - Хаскли. Все перечисленные типы каналов встречаются и в астроцитах.

АТФ – азные помпы

Ca^{2+} АТФ-азный канал PMCA, расположенный на плазматической мембране, удаляет кальций из клетки за счет гидролиза АТФ, причем для переноса двух молекул Ca^{2+} гидролизует одна молекула АТФ [7]. Канал имеет высокое сродство к кальцию, поддерживает кальций на очень низких концентрациях.

SERCA расположена на сарко- и эндоплазматическом ретикулуме. Скорость данного канала регулируется регуляторным белком PLB (белок ингибирует активность SERCA).

Два иона кальция из цитоплазмы перемещаются в ЭПР (в случае PMCA, ионы кальция выносятся в межклеточное пространство) с определенной скоростью. С - промежуточный комплекс, образующийся при связывании цитоплазматического кальция с ферментом и диссоциирующий при высвобождении Ca^{2+} в ЭПР или межклеточное пространство.

Рианодиновые рецепторы

Рианодиновые рецепторы выводят ионы кальция из эндоплазматического ретикулума в цитозоль. Данные рецепторы стимулируют транспортировку Ca^{2+} в цитозоль, создавая механизм положительной обратной

связь, поэтому небольшое количество кальция в цитоплазме вблизи рецептора приводит к высвобождению кальция из ЭПР (кальций индуцированное высвобождение кальция (CICR)) [14, 63].

Глутамат – активированный кальций сигнальный каскад

Известно, что глутамат в синаптической щели в высоких концентрациях вызывает токсичность в нейронах. Поэтому астроциты выступают в роли поглотителя глутамата. Одним из рецепторов, вступающих в реакцию с глутаматом является mGluRs.

Данный глутаматный рецептор активирует каскад реакций синтеза молекул IP3 [49]. После активации mGluRs глутаматом запускается следующий каскад: активация G – белка – активация PLC – активация PIP2. Активированный PIP2 распадается на DAG и IP3 (рисунок 2).

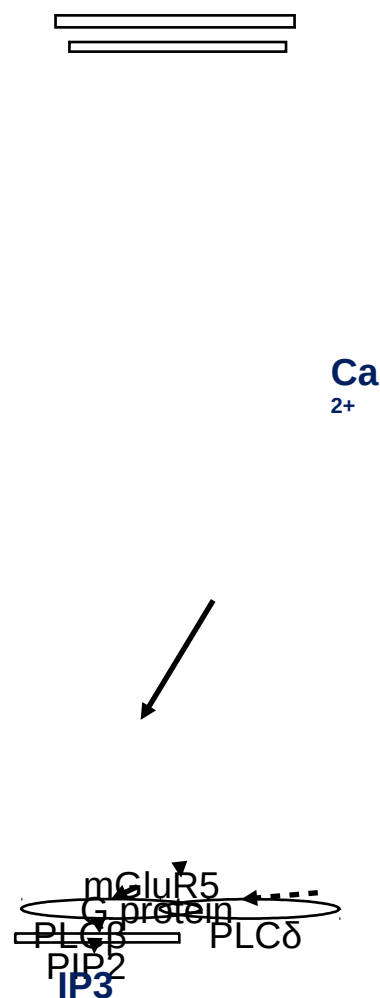


Рисунок 2 - схема каскада реакций синтеза молекул IP3

Инозитол 1, 4, 5 трис – фосфатные рецепторы

IP₃R связан с многими процессами кальциевых сигналов, проходящих в разных типах клеток. Активность таких рецепторов контролируется несколькими факторами: концентрацией IP3 и кальция (возникновение CICR), тем самым, усложняя понимание поведения рецептора. Возникает необходимость измерения вероятности устойчивого открытия каналов в зависимости от множества агонистов, а также реакцию самого рецептора на изменение концентраций агонистов [53].

1.2 Математические модели астроцита

Существует множество математических моделей. Все существующие модели кальций – сигнальных путей астроцита разделяют на 4 группы.

- Группа 1. В основу моделей этой группы заложены механизмы из Де Янг и Кэйзер (1992) [10], Ли и Ринзел (1994) [34]: [4, 8, 9, 15, 18, 20, 28, 29, 40, 48, 50, 61, 62]. Модель Де Питты – наиболее адекватный представитель данной группы [9].
- Группа 2. Модели данной группы базируются на модели Хофер и др. (2002) [24]: [31, 58, 64]. Представителем этой группы является модель Лаврентовича [31].
- Группа 3 основывается на Де Янг и Кэйзер (1992) [10], Ли и Ринзел (1994) [35], Хофер и др. (2002) [24]: [11, 12, 21, 43, 46, 47, 56]. Представитель группы - модель Рiera и др. [46].
- 4 группа включает в себя остальные типы моделей [13, 26, 30, 35, 41]. Представителем данной группы является модель Дюпонта [13].

1.2.1 Математическая модель кальций-сигнальных путей Рiera

Модель кальций-сигнальных путей астроцита Рiera [47] учитывает следующие потоки: постоянный поток кальция в цитоплазму J_i , поток кальция в ЭПР из межклеточного пространства через емкостной канал J_{CCE} , поток кальция через IP3R J_{rel} , J_{out} – вывод кальция из цитозоля, поток через J_{serca} .

Емкостный вход Ca^{2+} (CCE) - это поток ионов кальция из внеклеточного пространства, который происходит всякий раз, когда внутриклеточные запасы (в ЭПР) истощаются [23, 32]. Уравнение, описывающее поведение CCE:

$$J_{CCE} = \frac{X_{CCE} * H_{CCE}^2}{\tau_i \tau_e \tau_o} \quad (1.1)$$

где X_{CCE} - максимальная скорость активационно-зависимого притока кальция, H_{CCE}^0 - константа полуинактивации для притока CCE.

$$J_{out} = k_{out} * \text{Ca}^{2+}_{cyt} \quad (1.2)$$

где k_{out} - скорость выведения кальция из цитоплазмы.

Поток кальция через помпы, математически описывается в виде:

$$J_{serca} = V_{max} * \frac{\text{Ca}^{2+}_{cyt}}{K + \text{Ca}^{2+}_{cyt}} \quad (1.3)$$

где V_{max} - максимальная скорость реакции, K - концентрация кальция, при которой скорость реакции составляет половину от максимальной.

Поток через канал IP3R моделируется с помощью уравнений Ходжкина – Хаскли и имеет вид:

$$J_{rel} = c_1 * (v_1 * m_{\infty}^3 * h^3 + v_2) * \text{Ca}^{2+}_{cyt} \quad (1.4)$$

где v_1 и v_2 – соответствующие постоянные потока через данный путь, c_1 – объемная скорость между ЭПР и цитозолем.

Вероятность, что канал находится в открытом состоянии рассчитывается по формуле:

$$m_{\infty} = \frac{[IP_3]_{cyt}}{d_1 + [IP_3]_{cyt}} \quad (1.5)$$

где d_1 – константа диссоциации молекул IP3, d_5 – константа диссоциации кальциевой активации.

Вероятность, что канал находится в закрытом состоянии рассчитывается по формуле:

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1 - h) - \beta_h * h \quad (1.6)$$

Коэффициент α_h (скорость открытия канала) зависит от концентрации молекул IP3 и имеет следующий вид:

$$\alpha_h = \frac{a * d_2 * [IP_3]_{cyt} + d_1}{[IP_3]_{cyt} + d_3} \quad (1.7)$$

где a , d_2 , d_1 , d_3 – нормировочные константы.

Скорость закрытия канала (β_h) зависит от концентрации кальция в цитозоле, моделируется в виде:

$$\beta_h = a * \text{Ca}^{2+}_{cyt} \quad (1.8)$$

Таким образом, динамика цитозольного кальция в модели Риера имеет вид:

$$d[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}} = \varepsilon \cdot (I_{\text{Ca}} - I_{\text{Ca}}^{\text{leak}}) - K_{\text{Ca}}[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}} \quad (1.9)$$

где ε – отношение площади поверхности плазматической мембраны к площади ЭПР.

Чтобы охарактеризовать мгновенный градиент ионов Ca^{2+} между ЭПР и цитозолем, Рьер использует альтернативный способ: введением общих свободных ионов кальция в объем астроцита. Динамика свободных ионов Ca^{2+} задается уравнением:

$$d[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}} = \varepsilon \cdot (I_{\text{Ca}} - I_{\text{Ca}}^{\text{leak}}) - K_{\text{Ca}}[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}} \quad (1.10)$$

Учитывая свободный кальций динамика Ca^{2+} в ЭПР:

$$d[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}} = -K_{\text{Ca}}[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}} + \varepsilon \cdot (I_{\text{Ca}} - I_{\text{Ca}}^{\text{leak}}) \quad (1.11)$$

Динамика IP3 учитывает синтез и деградацию молекул IP3:

$$\frac{d[\text{IP}_3]_{\text{cyt}}}{dt} = X_{\text{IP}_3} - \text{PLC}_{\delta 1} - K_{\text{IP}_3} \cdot [\text{IP}_3]_{\text{cyt}} \quad (1.12)$$

X_{IP_3} – константа синтеза молекул IP3, K_{IP_3} – константа деградации IP3.

Субъединица $\text{PLC}_{\delta 1}$ в данной модели основывается на данных Pawelczyk & Matecki (1997a) для ферментов, выделенных из печени крыс. Коэффициенты оптимизированы, уравнение субъединицы имеет вид:

$$\text{PLC}_{\delta 1} = V_{\delta} \cdot \frac{[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}}{K_{\delta\text{Ca}} + [\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}} \quad (1.13)$$

здесь V_{δ} – максимальная скорость производства молекул IP3, $K_{\delta\text{Ca}}$ константа полунасыщения Михаэлиса – Ментен.

Несмотря на то, что в модели Риера учтены основные потоки кальция – сигнальных путей, модель имеет ряд минусов. Так, данная модель имеет ограничения по времени (1200 с), при достижении данного предела расчеты прекращаются. Поток кальция в цитозоль является постоянным, что не соответствует реальной физиологии астроцита. Управление частотой спонтанных колебаний происходит за счет изменений постоянной потока кальция в цитозоль в определенном ограниченном диапазоне. Одной из

основных функций астроцита является защита нейронов от глутаматной токсичности. В данной модели этот процесс не учтен.

1.2.2 Математическая модель кальций-сигнальных путей Лаврентовича и Хемкина

В модель Лаврентовича и Хемкина [31] заложены: поток через канал SERCA, поток кальция через PLC, поток через IP3R. Также в модели учитываются потоки через плазматическую мембрану: постоянный в цитозоль и зависящий от концентрации кальция в клетке поток из цитозоля.

Модель потока кальция через IP3R учитывает механизм кальций индуцированного высвобождения кальция:

$$J_{cicr} = 4 * V_{M3} * k_{CaA}^n * [Ca^{2+}]^n * [IP3] \quad (1.14)$$

где V_{M3} – максимальная скорость потока через рецептор, k_{CaA}^0 и k_{CaI}^0 – активирующее и ингибирующее сродство кальция к рецептору соответственно, k_{IP3}^m – сродство IP3 к рецептору, n и m – коэффициенты Хилла.

Динамика кальция в цитозоле данной модели задается уравнением:

$$d[Ca^{2+}]_{cyt} / dt = J_{serca} - k_{out} [Ca^{2+}]_{cyt} + J_{cicr} - k_f [Ca^{2+}]_{cyt} \quad (1.15)$$

k_{out} представляет скорость выведения кальция из цитоплазмы, k_f – поток утечки из ЭПР в цитозоль из-за градиента концентрации. J_{serca} имеет вид (1.3).

Соответственно, дифференциальное уравнение динамики кальция в ЭПР рассчитывается как:

$$d[Ca^{2+}]_{er} / dt = J_{serca} - k_{deg} [Ca^{2+}]_{er} \quad (1.16)$$

В модель Лаврентовича и Хемкина заложены механизм синтеза молекул IP3 от субъединицы PLC δ , а также деградация молекул IP3, поэтому динамика IP3 имеет вид:

$$\frac{d[IP3]_{cyt}}{dt} = J_{PLC} - k_{deg} * [IP3]_{cyt} \quad (1.17)$$

где k_{deg} – константа деградации.

Синтез IP3 (J_{PLC}) имеет вид (1.13).

В модели Лаврентовича и Хемкина также существует ряд минусов. Поток кальция в цитозоль является постоянным, что не соответствует реальной физиологии астроцита. Осцилляции кальция существуют только при определенном значении константы потока в цитозоль, при изменении этого параметра спонтанные колебания исчезают. Как и в случае с моделью Риера, в данной модели не учтена функция защиты нейронов от глутаматной токсичности.

1.2.3 Математическая модель кальций-сигнальных путей Дюпонта

Основой модели Дюпонта [13] являются биохимические реакции, запускающиеся активацией глутаматного рецептора mGluR5.

Связывание и расщепление глутамата с рецептором описывается:

$$\frac{dR_i}{dt} = k_{i+iii} - k_{i-iii} \quad (1.18)$$

k_{i+iii} представляет константу скорости связывания кальция с ингибирующим сайтом рецептора IP3, K_{act}^3 - константу связывания кальция с сайтом активации IP3R, k_{i-iii} - константу скорости диссоциации кальция от ингибирующего сайта рецептора InsP3.

В модели учитывается фосфорилирование рецепторных имеров с помощью РКС. Уравнение доли активного нефосфорилированного димера имеет вид:

$$\frac{dDIM}{dt} = \frac{V_{M1} * DIM^p}{DIM^p + k_{A1}} - \frac{V_{PKC} * PKC * DIM}{DIM + K_A} \quad (1.19)$$

где V_{M1} - максимальная скорость дефосфорилирования рецептора mGlu5 фосфатазой, k_{A1} - константа Михаэлиса фосфатазы для рецептора mGlu5, V_{PKC} - максимальная скорость фосфорилирования рецептора mGlu5 с помощью РКС, K_A - константа Михаэлиса РКС для рецептора mGlu5.

Фосфорилирование рецептора mGlu5R описывается уравнением:

$$\frac{dPKC}{dt} = \frac{k_{act} * [DAG]_{cyt}}{[DAG]_{cyt} + K_{AD}} * (1 - PKC) - k_{des} * PKC \quad (1.20)$$

где k_{act} - нормализованная максимальная скорость активации PKC, K_{AD} - константа активации PKC от DAG, k_{des} - константа скорости деактивации PKC.

Концентрация димеров фосфорилированных рецепторов (DIM^P) определяется как:

$$DIM^P = \frac{R_{tot} - \sqrt{k_{di} * R_2 - 2 * R_2 - 2 * DIM}}{2} \quad (1.21)$$

где R_{tot} является общей внутриклеточной концентрацией рецептора mGlu5 (в мономерной форме), k_{di} - константа димеризации рецептора mGlu5.

Концентрация свободных димеров рецептора рассчитывается по формуле:

$$R_2 = \frac{K_{aff} * DIM}{[Glu]_{syn}^2} \quad (1.22)$$

K_{aff} представляет константу связывания глутамата на рецепторе mGlu5.

Динамика концентрации диацилглицерола в данной модели пропорциональна концентрации димера активного рецептора:

$$\frac{d[DAG]_{cyt}}{dt} = k_{PLC} * DIM - \frac{V_{MD} * [DAG]_{cyt}}{[DAG]_{cyt} + K_{MD}} \quad (1.23)$$

k_{PLC} представляет каталитическую активность PLC, V_{MD} - максимальную скорость, K_{MD} - коэффициент полуактивации.

Синтез IP3 задается концентрацией димера активного рецептора, также учитывается деградация IP3. Дифференциальное уравнение IP3 молекул имеет вид:

$$\frac{d[IP_3]_{cyt}}{dt} = k_{PLC} * DIM - k_1 * [IP_3]_{cyt} \quad (1.24)$$

k_{PLC} представляет каталитическую активность PLC, k_1 - константу скорости деградации IP3.

Динамика кальция в цитозоле данной модели учитывает постоянный поток кальция в цитозоль, поток кальция из ЭПР через IP3R, поток через помпу

SERCA и выведение кальция в межклеточное пространство. Дифференциальное уравнение имеет вид:

$$d\text{Ca}^{2+}/dt = v_0 - k_i b_1 \text{Ca}^{2+} - \alpha V_{MP} \text{Ca}^{2+} / (K_p^2 + \text{Ca}^{2+}) + k_l \text{Ca}^{2+} \quad (1.25)$$

где v_0 - скорость проникновения Ca^{2+} из внеклеточной среды, $k_i b_1$ - скорость утечки кальция из ЭПР, α - нормировочный параметр, V_{MP} - максимальная скорость потока кальция через SERCA, k_p^2 - константа Михаэлиса помпы SERCA, k_l - скорость оттока Ca^{2+} во внеклеточную среду.

Поведение IP3R с учетом механизма кальций индуцированного высвобождения кальция задается формулой:

$$IP_a = (1 - R_i) * k_i^2 \text{IP}_3 / (K_i^2 + \text{IP}_3) \quad (1.26)$$

где k_i^2 - константа Михаэлиса, связывающая IP3 с его рецептором, K_{act}^3 - константа связывания Ca^{2+} с активирующим сайтом IP3R,

Однако, модель Дюпонта также имеет ряд недостатков. Так, в модели постоянная концентрация глутамата на всем периоде моделирования, что не физиологично. Также, данная модель не адекватно реагирует на изменение концентрации глутамата: амплитуда колебаний больше при меньшей концентрации глутамата, а при большей концентрации глутамата – амплитуда осцилляций меньше. Приток кальция в цитозоль, как и в предыдущих моделях, является постоянным, что не соответствует физиологии астроцита. В модели заложена постоянная концентрация кальция в ЭПР, что также не соответствует нормальной физиологии астроцита.

1.2.4 Математическая модель кальций-сигнальных путей Де Питты

В данной модели используется три переменных: концентрация Ca^{2+} , концентрация молекул IP3 и доля активных IP3R. Общая модель включает в себя три потока: поток через IP3R, подтечка, поток через SERCA. IP3R активируется молекулами IP3, синтезированные в ходе каскада реакций, активированного глутаматным рецептором. Особенности синтеза и деградации

молекул IP3 учитываются в модели Де Питты [9]. Так, поток через активированный PLC $_{\beta}$ имеет вид [4]:

$$J_{beta} = \frac{V_{beta} * [Glu]_{syn}^{0,7}}{[Glu]_{syn}^{0,7} + K_y^{0,7}} \quad (1.27)$$

где V_{beta} — максимальная скорость производства IP3 по PLC $_{beta}$, $[Glu]_{syn}^{0,7}$ — концентрация внеклеточного глутамата.

K_y — сродство рецептора к глутамату, которое рассчитывается по формуле:

$$K_y = K_R \cdot i \quad (1.28)$$

K_R представляет сродство глутамата к рецептору, K_p Ca/РКС-зависимый фактор ингибирования, K_{π} сродство кальция к РКС.

Субъединица дельта активируется из-за изменений концентраций кальция:

$$J_{delta} = \frac{V_{delta}}{1 + \frac{[IP3]_{cyt}}{k_{delta}}} * i \cdot i \cdot i \quad (1.29)$$

где V_{delta} — максимальная скорость производства IP3 по PLC $_{delta}$, $[IP3]_{cyt}$ — внутриклеточная концентрация IP3, k_{delta} — сродство кальция к IP3, $K_{PLC\delta}^1$ — Ca $^{2+}$ сродство к PLC $_{beta}$.

Концентрация молекул IP3 регулируется в клетке путем деградации в зависимости от концентрации IP3 и Ca $^{2+}$. Этот процесс необходимо учитывать при моделировании. Поток деградации IP3 выглядят следующим образом:

$$J_{3K} = V_{3K} \cdot i \cdot i \cdot i \quad (1.30)$$

где V_{3K} — максимальная скорость деградации по IP3 – 3K, K_D — Ca $^{2+}$ сродство к IP3 – 3K, K_3 — IP3 сродство к IP3 – 3K.

Т.о. модель Де Питты учитывает синтез IP3 от двух субъединиц PLC и учитывает деградацию IP3 молекул:

$$\frac{d[IP3]_{cyt}}{dt} = J_{beta} + J_{delta} - J_{3K} - r_{5P}[IP3]_{cyt} \quad (1.31)$$

где r_{5P} — константа деградации IP3 по 5P механизму.

Поток кальция через IP3R замоделирован с помощью уравнений Ходжкина – Хаксли, так учитываются вероятности разных состояний рецептора:

$$J_{IP3} = r_c m_{\infty}^3 n_{\infty}^3 h^3 \quad (1.32)$$

где r_c – максимальная проницаемость канала, c_1 – поправочный коэффициент.

Вероятность медленной активации рецептора рассчитывается по формуле:

$$n_{\infty} = \quad (1.33)$$

d_5 – константа диссоциации кальциевой активации.

Вероятность быстрой активации рецептора имеет вид:

$$m_{\infty} = \frac{[IP3]_{\text{cyt}}}{[IP3]_{\text{cyt}} + d_1} \quad (1.34)$$

d_1 – константа диссоциации IP3.

Вероятность, что рецептор не активен рассчитывается по следующим формулам:

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_{\infty} - h}{\tau_h} \quad (1.35a)$$

$$h_{\infty} = \frac{Q_2}{Q_2 +} \quad (1.35б)$$

$$Q_2 = d_2 \frac{[IP3]_{\text{cyt}} + d_1}{[IP3]_{\text{cyt}} + d_3} \quad (1.35в)$$

$$\tau_h = \frac{1}{a_2} \quad (1.35г)$$

где d_2 – константа диссоциации кальциевой инактивации, d_3 – константа диссоциации IP3, a_2 – скорость связывания IP3R для ингибирования Ca^{2+} .

В данную модель включена подтечка кальция из ЭПР:

$$J_{\text{leak}} = r_L \quad (1.36)$$

r_L представляет максимальную скорость подтечки кальция из ЭПР, c_1 – Соотношение между объемом цитозоля и объемом ЭПР.

$$d\lll (1.37)$$

J_{pump} – поток кальция через помпу SERCA (1.3).

Несмотря на то, что в модели Де Питты учтены сложности синтеза и деградации IP3, модель имеет ряд минусов. Потоки кальция во внутриклеточную среду и во внеклеточную среду через каналы плазматической мембраны не учтены, что не соответствует реальным процессам. Концентрация кальция в ЭПР постоянна, что не физиологично. Отсутствуют спонтанные колебания кальция.

1.3 Параметры моделей

Основной сложностью в работе с моделями являются параметры модели. Возникает разница в значениях параметров по двум причинам:

1 – из – за выбора экспериментально измеренных параметров. Клетки астроцита имеют разные типы, и, в зависимости от типа, параметры отличаются. Также астроциты располагаются в разных отделах мозга, выполняя определенную спецификацию, что также приводит к разности значения фиксируемых параметров.

2 – из – за регулирования параметров во время моделирования кальций – сигнальных путей.

Так, для простой помпы SERCA, моделируемой с помощью уравнения Хилла, параметры максимальной скорости и полунасыщения имеют разные (по порядку) значения. Для сравнения, в таблице 1 приведены параметры SERCA из нескольких моделей.

Таблица 1 – значения констант максимальной скорости и констант полунасыщения SERCA

V_{max}	K	Модель
15	0.05	[47]
0.9	0.1	[31]
2	0.4	[13]
0.9	0.1	[9]

2.2	0.1	[59]
0.9	0.1	[19]
15	0.1	[52]
0.9	0.05	[25]
7.5	0.13	[5]
0.49	0.24	[24]

1.4 Модель VGCC, RyR и PMCA

Каналы VGCC для астроцитов замоделированы Зенг [64]. В модели Зенга каналы делятся по активации на низковольтные каналы (Т - тип) высоковольтные каналы (L - , N - , P - , Q - , R - типы). Каждый тип канала дает вклад в общий поток кальция через канал VGCC. Моделируется данный канал с помощью уравнений Ходжкина – Хаксли.

Так, уравнение для канала Т – типа имеет вид:

$$I_{Ca,T} = g_T m_T (h_{Tf} + 0,04 h_{Ts}) (V - E_{Ca}) \quad (1.38)$$

где g_T – проводимость мембраны канала Т, V – напряжение на мембране, E_{Ca} – потенциал Нернста.

Вероятность открытого канала рассчитывается по формуле:

$$m_T = \frac{1}{1 + e^{-(V+63,5)/1,5}} \quad (1.39)$$

Так как канал типа Т – низковольтный, для него рассчитывается вероятность закрытого канала из двух составляющих по уравнениям:

$$h_T = \frac{1}{1 + e^{(V+76,2)/3}} \quad (1.40a)$$

$$\tau_{hTs} = 400 e^{-\frac{V+76,2}{3}} \quad (1.40б)$$

$$\tau_{hTf} = 50 e^{-\frac{V+76,2}{3}} \quad (1.40в)$$

$$\tau_{mT} = 65 e^{-\frac{V+76,2}{3}} \quad (1.40г)$$

Уравнения канала L – типа:

$$I_{Ca,L} = g_L m_L h_L (V - E_{Ca}) \quad (1.41a)$$

$$h_L = \frac{0,00045}{0,00045 + e^{\frac{V+76,2}{3}}} \quad (1.41б)$$

$$m_L = \frac{1}{1 + e^{-(V+50)/3}} \quad (1.41\text{в})$$

$$\tau_{mL} = 18 e^{-\frac{V+50}{10}} \quad (1.41\text{г})$$

Уравнения канала N – типа:

$$I_{Ca,N} = g_N m_N h_N (V - E_{Ca}) \quad (1.42\text{а})$$

$$h_N = \frac{0,0001}{0,0001 + e^{\frac{V+45}{7}}} \quad (1.42\text{б})$$

$$N = \frac{1}{1 + e^{-(V+45)/7}} \quad (1.42\text{в})$$

$$\tau_{mN} = 18 e^{-\frac{V+45}{10}} \quad (1.42\text{г})$$

Уравнения канала R – типа:

$$I_{Ca,R} = g_R m_R h_R (V - E_{Ca}) \quad (1.43\text{а})$$

$$h_R = \frac{1}{1 + e^{(V+48)/5}} \quad (1.43\text{б})$$

$$m_R = \frac{1}{1 + e^{-(V+10)/10}} \quad (1.43\text{в})$$

$$\tau_{mR} = 0,1 e^{-\frac{V+10}{10}} \quad (1.43\text{г})$$

$$\tau_{hR} = 0,5 e^{-\frac{V+48}{10}} \quad (1.43\text{д})$$

где $g_{L,N,R}$ - мембранные проводимости каналов L - , N - , R - , Q - , R – типов соответственно (см. приложение 2), $m_{L,N,R}$ – вероятность открытого канала для каждого типа, $h_{L,N,R}$ – вероятность закрытого канала.

Общий поток кальция через все типы VGCC:

$$J_{VGCC} = \frac{-(I_{Ca,T} + I_{Ca,L} + I_{Ca,N} + I_{Ca,R})}{zF V_{ast}} \quad (1.44)$$

где F – константа Фарадея, z – валентность кальция, V_{ast} – объем астроцита, принятый в виде сферической сомы с радиусом 5 мм, рассчитанный как $5,233 * 10^{-13}$ л.

В основном существуют математические модели рианодинового рецептора для кардио, костных клеток. Существует одна из простых моделей, описывающая колебания кальция в симпатическом нейроне, построена Фриэлем [17]:

$$J_{RyR} = \frac{V_r [\text{Ca}]_i}{K + [\text{Ca}]_i} \quad (1.45)$$

где $[\text{Ca}]_i$ и $[\text{Ca}]_r$ - концентрация кальция в цитоплазме и ЭПР, соответственно; k_1 - утечка кальция в нуле (введение утечки необходимо для обеспечения физиологического покоя концентрации кальция, хотя и не является обязательным включением в RyR); V_r - максимальная скорость рецептора; K – коэффициент Михаэлиса – Ментен.

Однако, данная модель не учитывает особенности поведения рецептора. Данный рецептор имеет четыре вероятных варианта состояния: открытые O_1 и O_2 , закрытые C_1 и C_2 . Такая особенность учитывается в моделировании пути с помощью Марковских цепей, схема которой показана на рисунке 3 [27].

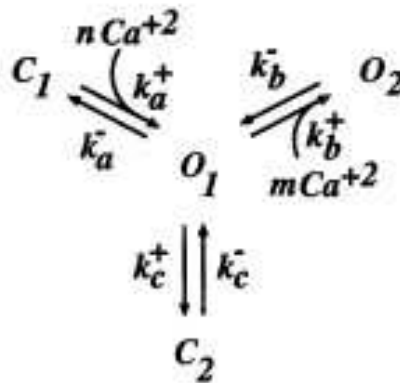


Рисунок 3 - схема марковской цепи рианодинового рецептора [27]

Так, вероятность состояния C_1 (P_{C1}) в определенный момент времени имеет следующий вид:

$$\frac{dP_{C1}}{dt} = k_a^- [\text{Ca}]_i P_{O1} - k_a^+ [\text{Ca}]_i P_{C1} \quad (1.46)$$

где k_a^- - скорость перехода из состояния O_1 в состояние C_1 , k_a^+ - скорость перехода из состояния C_1 в состояние O_1 , $nRyR$ – количество ионов кальция, необходимое для перехода рецептора в состояние C_1 .

Вероятности состояний O_1 и O_2 задаются уравнениями:

[illegible]

$$\frac{dP_{O_2}}{dt} = k_b^{+} * C_{\text{cyt}}^{m\text{RyR}} * P_{O_1} - k_b^{-} * P_{O_2} \quad (1.48)$$

где $k_b^{+\ddot{c}}$ - скорость перехода из состояния O_1 в состояние O_2 , $k_b^{-\ddot{c}}$ - скорость перехода из состояния O_2 в состояние O_1 , $k_c^{+\ddot{c}}$ - скорость перехода из состояния O_1 в состояние C_2 , $k_b^{-\ddot{c}}$ - скорость перехода из состояния C_2 в состояние O_1 , $mRyR$ – количество ионов кальция, необходимое для перехода рецептора в состояние O_2 .

Четвертое состояние C_2 определяется как разность вероятностей состояний O_1, O_2, C_1 от 1:

$$P_{C2}=1-P_{C1}-P_{O1}-P_{O2} \quad (1.49)$$

Поток кальция через рианодиновый рецептор учитывает вероятности открытых состояний O_1 и O_2 . Т.о. поток имеет вид:

$$J_{RyR} = (P_{o1} + P_{o2}) * (C_{er} - C_{cyt}) * V_{RyR} \quad (1.50)$$

Поток кальция через помпу РМСА, математически описывается в виде уравнения Хилла [45]:

$$J_{pmca} = V_{max} * \textcolor{red}{\textcircled{\textcircled{\textcircled{\hspace{-0.8em}}}}} \quad (1.51)$$

где V_{max} - максимальная скорость реакции, K - концентрация кальция, при которой скорость реакции составляет половину от максимальной.

ГЛАВА 2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Описание математической модели

За основу математической модели взята общая модель Де Питта и др. [4] для глутамат (Glu) - индуцированной астроцитной динамики Ca^{2+} . К исходной модели Де Питта добавлены каналы поступления кальция во внутриклеточную среду VGCC типов T - L - , N - , P - , R – (1.38 – 1.44). Также добавлен канал, выводящий кальций во внеклеточное пространство PMCA (1.51). Добавлен RyR (1.46 – 1.50).

Таким образом, динамика кальция в цитозоле имеет следующий вид:

$$d[\text{Ca}]_{\text{cyt}} = J_{\text{IP3}} - J_{\text{serca}} - J_{\text{pmca}} - J_{\text{leak}} \quad (2.1)$$

где J_{IP3} – поток через IP3R (1.16); J_{serca} и J_{pmca} - потоки через SERCA и PMCA соответственно (1.9); J_{leak} - подтечка из ЭПР.

В модели Де Питта концентрация кальция в ЭПР постоянна, что тоже не соответствует реальным процессам. В настоящей модели добавлена динамика кальция ($[\text{Ca}]_{\text{er}}$ заменен на $d[\text{Ca}]_{\text{er}}$) в ЭПР и имеет вид:

$$d[\text{Ca}]_{\text{er}} = J_{\text{er}} - J_{\text{leak}} \quad (2.2)$$

Динамика IP3 в модели не изменена из модели Де Питты (1.31).

2.2 Условия исследования

В данной работе исследование разделено на три блока: моделирование спонтанных осцилляций кальция, моделирование глутаматных стимуляций колебания цитозольного кальция, сравнение динамики кальция настоящей модели с динамиками моделей Риера, Лаврентовича и Хемкина, Дюпонта, Де Питты.

1. Моделирование спонтанных колебаний. Начальные условия показаны в таблице 2.

Таблица 2 – начальные значения настоящей модели

	Величина	Единица измерения
\bar{c}	0,09	μM
\bar{c}	2	μM
$[IP\ 3]_{cyt}$	0,22	μM
h	0,78	-
m_t	0,01	-
m_n		
m_r		
m_l		
h_{tf}	0,8	-
h_{ts}		
h_r		
$PC1$	1	-
$PO1$	0	-
$PO2$	0	-

Моделирование спонтанных колебаний производилось для 13000 секунд. Параметры модели в приложении 1.

- Для изучения комбинации спонтанных и глутамат – стимулированных осцилляций генерировали 5 глутаматных стимуляций с концентрацией 5 μM в диапазонах: 1000 - 1050, 1550 – 1600, 2100 – 2150, 2650 – 2700, 3200 – 3250 секунды. Зависимость осцилляций кальция от глутамата устанавливали для четырех концентраций: 10, 1, 0.1, 0.01 μM.
- Для сравнения поведения данной математической модели воспроизводили модели Лаврентовича и Хемкина, Риера и др., де Питы и Дюпонта, описанных в главе 1.2. Начальные значения занесены в таблицу 3.

Таблица 3 – начальные значения моделей

	Риер	Лаврентови	Де Питта	Дюпонт
--	------	------------	----------	--------

		и Хемкин		
\ddot{c}	0,09 μM	0,1 μM	0,09 μM	0,1 μM
$[IP\ 3]_{\text{cyt}}$	0,14 μM	0,1 μM	0,22 μM	0,2 μM
\ddot{c}	-	1,5 μM	-	-
\ddot{c}	2 μM	-	-	-
h	0,79	-	0.78	-
R_i	-	-	-	0,9898
$[DAG]_{\text{cyt}}$	-	-	-	$25 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}$
$[DIM]$	-	-	-	$14 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}$
PKC	-	-	-	0.2

При сравнении динамики кальция настоящей модели с моделями Дюпонта и Де Питты генерировалось два глутаматных стимула с концентрацией 5 μM в диапазонах: 300 - 400, 600 – 700 с.

Параметры модели Риера и др. в приложении 2, Лаврентовича и Хемкина в приложении 3, Дюпонта в приложении 4, Де Питты в приложении 1.

Математическая модель Ca^{2+} сигнальных потоков астроцита построена в пакете Python 3.6.6.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Спонтанные колебания кальция в цитозоле

Канал VGCC в астроците имеет спонтанный характер поведения: увеличение концентрации кальция в цитозоле ведет к изменению мембранного потенциала плазматической мембраны, что вызывает активацию определенных типов VGCC, такие же явления характерны при снижении и регулировании концентрации кальция в астроците. Увеличение концентрации кальция при спонтанном колебании приводит к активации механизма кальций индуцированного высвобождения кальция (CICR) от активного RyR и IP3R ($[Glu] = 0 \mu M$, но IP3R активируется повышением концентрации кальция).

Добавление к базовой математической модели Де Питта (с добавленной динамикой кальция в ЭПР) потока кальция из внеклеточного пространства через канал VGCC осцилляции кальция в цитозоле – спонтанные колебания (при условии активного RyR и $[Glu] = 0 \mu M$ (рисунок 4).

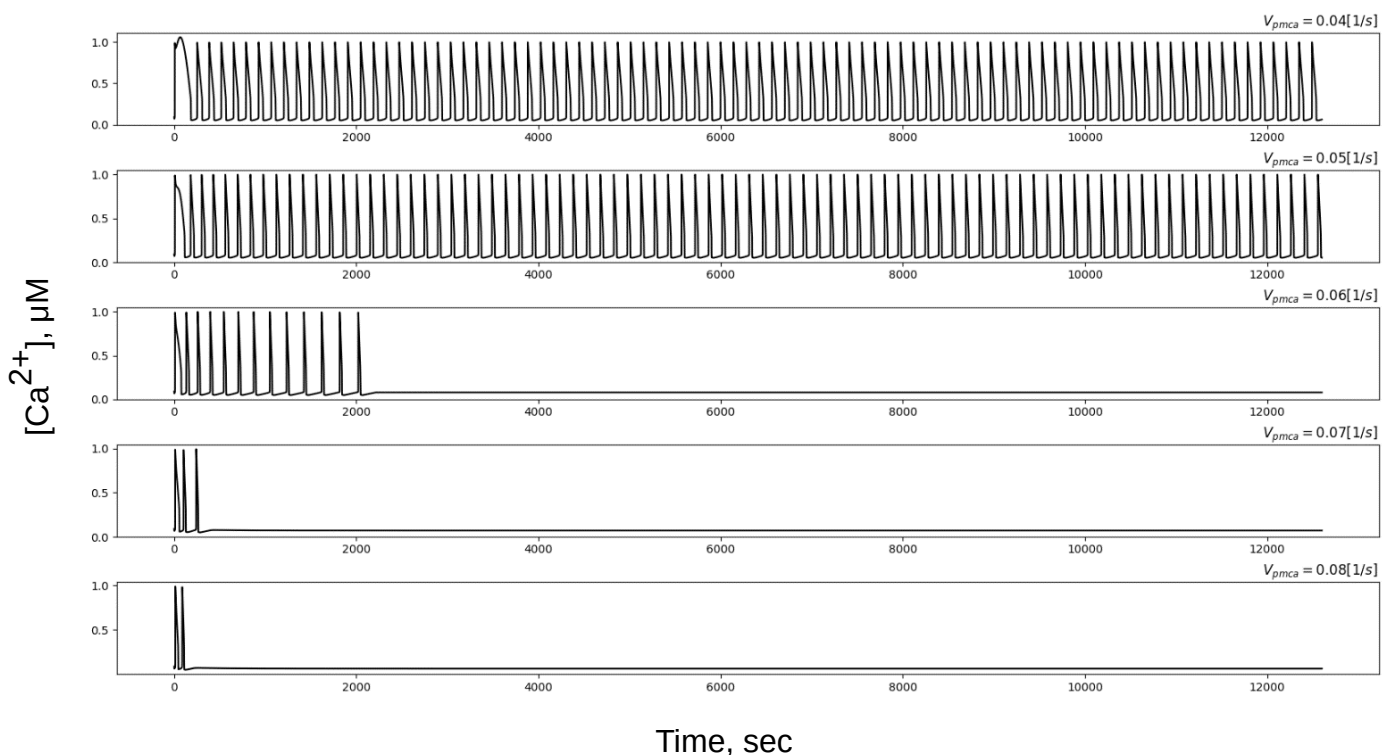


Рисунок 4 - спонтанные колебания кальция в цитозоле

Из рисунка видно, что при увеличении параметра максимальной скорости V_{PMCA} с 0,04 1/s до 0,04 1/s, уменьшается частота спонтанных колебаний. При дальнейшем увеличении параметра осцилляции прекращаются. Таким образом, с помощью параметра V_{PMCA} возможно осуществлять регулирование спонтанных колебаний кальция в цитозоле.

Динамика кальция в ЭПР при генерации спонтанных колебаний адекватна и ведет себя согласно с теорией. Хотя в условиях данного эксперимента $[Glu] = 0 \mu M$, синтез IP3 происходит за счет субъединицы PLC_{δ} . Добавление каналов VGCC и RyR не вносят нарушений в динамику IP3.

Введение глутамата, в виде периодических стимулов, в модель позволило получить полное совмещение спонтанных и глутаматных осцилляций. Увеличение параметра максимальной скорости V_{PMCA} , как и при отсутствии глутаматной стимуляции, приводит к уменьшению частоты спонтанных колебаний. С помощью данного параметра также возможно получить выключение спонтанных колебаний. Однако, при увеличении параметра максимальной скорости V_{RyR} спонтанные осцилляции «включаются» (рисунок 5).

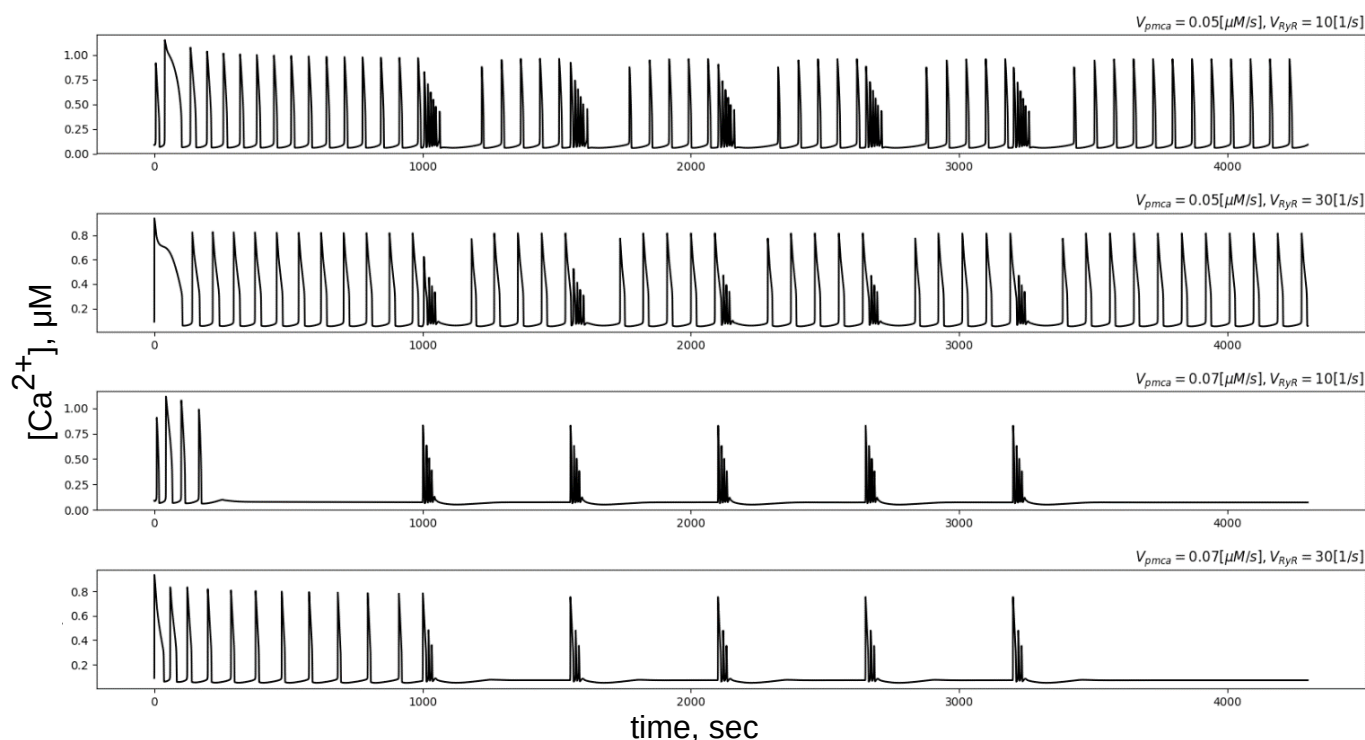


Рисунок 4 - Спонтанные колебания кальция в цитозоле при активном RyR и глутаматных стимулах

Из рисунка видно, глутаматные стимулы оказывают сильное влияние на кратковременное прерывание спонтанных колебаний, поэтому после глутаматного стимула спонтанные колебания не «включаются» с увеличением V_{RyR} . Следовательно, RyR участвует в регуляции спонтанных колебаний.

Таким образом, данная модель с активными RyR и IP3R, похоже, воспроизводит нормальное физиологическое поведение астроцита. Добавление к базовой модели Де Питты канала VGCC позволило сгенерировать спонтанные колебания на базе модели с глутаматом.

3.2 Глутаматная стимуляция колебаний цитозольного кальция

Рианоиновый рецептор также участвует в регуляции кальция при глутаматных стимуляциях (рисунок 6).

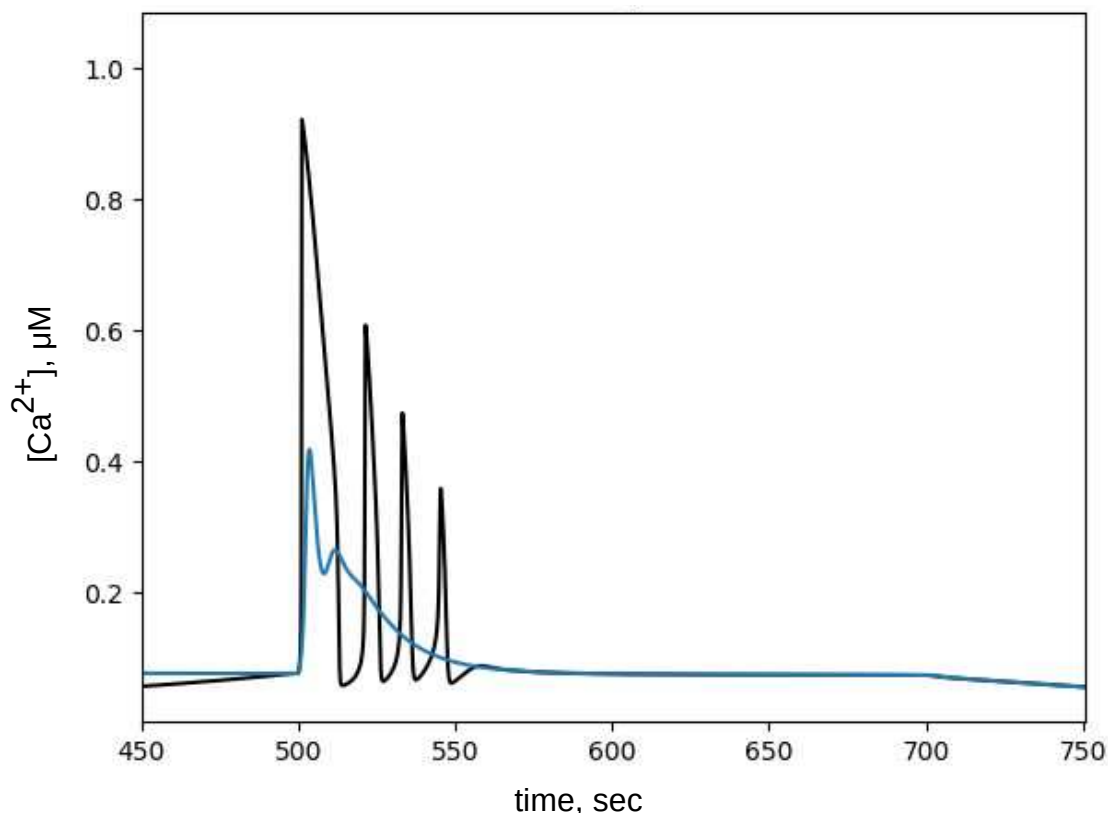


Рисунок 6 - колебания кальция в цитозоле, стимулированные глутаматом.

Синяя линия – RyR не активен, черная - RyR активен

Из рисунка видно, что при активном RyR меняется характер колебаний цитозольного кальция, стимулированные глутаматом. Известные модели утверждают, что при уменьшении концентрации глутамата происходит уменьшение амплитуды колебаний кальция при глутаматной стимуляции. При инактивации RyR настоящей модели характерно уменьшение амплитуды осцилляций (рисунок 7 синяя линия). В случае, когда RyR активен, при уменьшении концентрации глутамата амплитуда колебаний не изменена, однако меняется частота колебаний. В литературных источниках указано изменение частоты осцилляций при глутаматных стимулах.

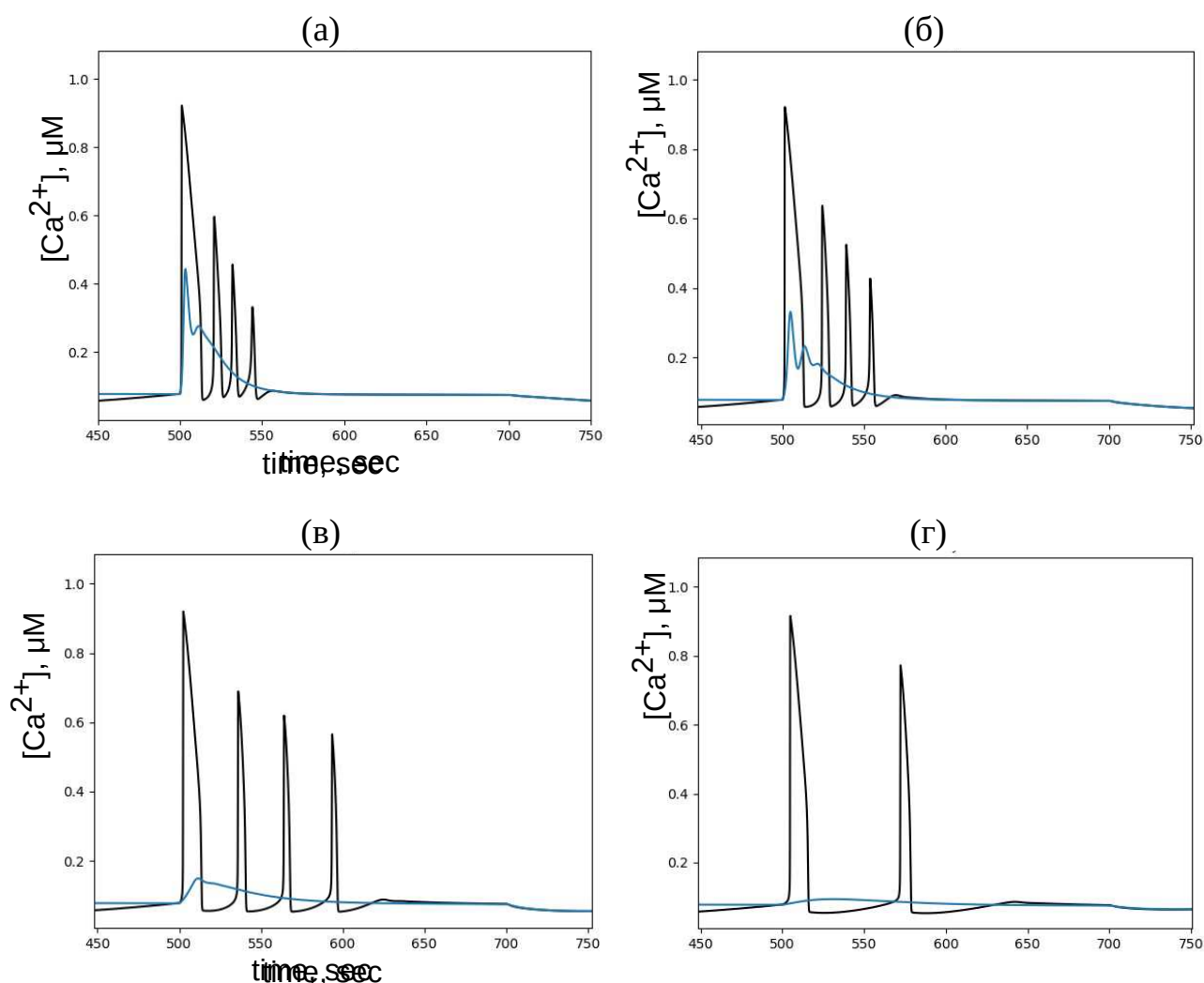


Рисунок 7 - колебания кальция в цитозоле, вызванные разными глутаматными стимулами (в момент времени $t = 500$ с): а) $[Glu] = 10 \mu M$, б) $[Glu] = 1 \mu M$, в)

$[Glu] = 0.1 \mu M$, г) $[Glu] = 0.01 \mu M$. Синяя линия – RyR не активен, черная - RyR активен.

Динамика кальция в ЭПР при разных глутаматных стимулах и активном рианодиновом рецепторе соответствует норме. На динамику IP3 активация RyR также не повлияла.

Таким образом, рианодиновый рецептор адекватно участвует в регуляции осцилляций от глутаматных стимулов.

3.3 Сравнение модели астроцита с базовыми моделями

В связи с тем, что математические модели кальция – сигнальных путей воспроизводят либо спонтанные, либо глутаматные стимуляции, сравнение настоящей модели производили в двух группах.

В первой группе сравнивали результаты моделирования спонтанных осцилляций с моделями Риера и др., Лаврентовича и Хемкина (рисунок 8).

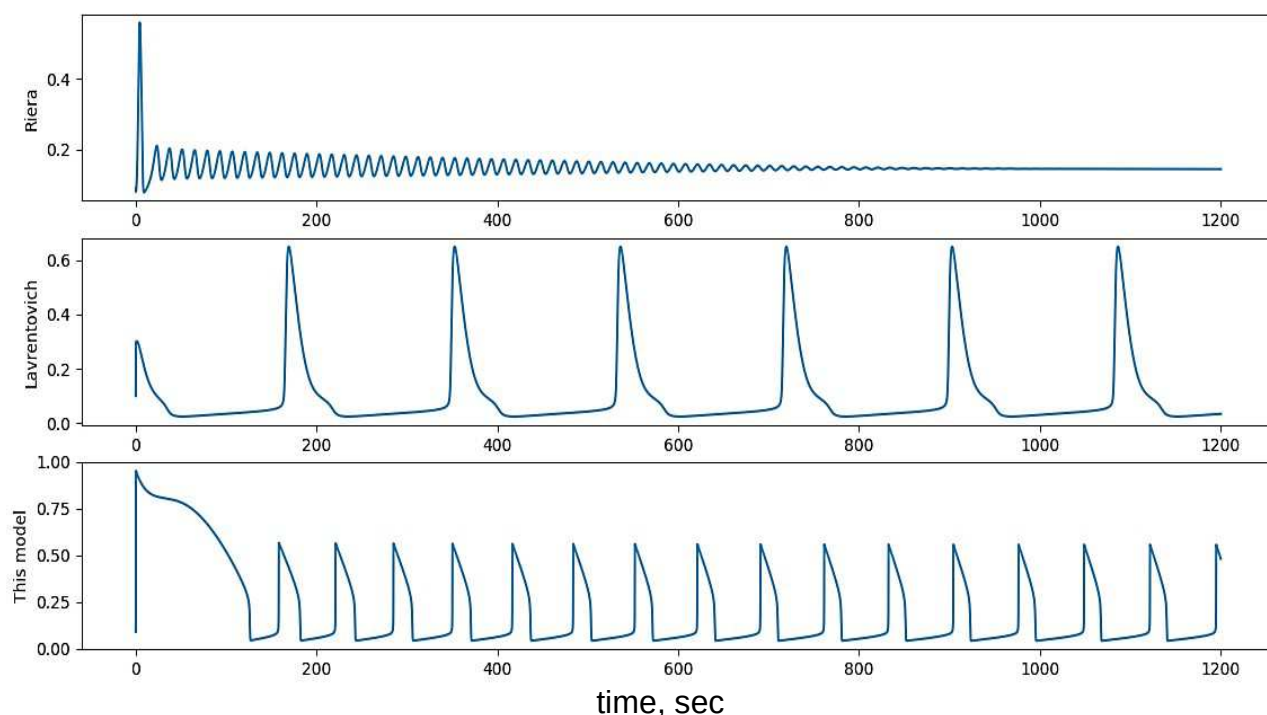


Рисунок 8 – спонтанные колебания цитозольного кальция модели Риера, Лаврентовича, настоящей модели

Моделирование производили до 1200 с, так как на большем периоде времени не работает модель Риера. Из рисунка видно, что частота спонтанных колебаний у модели Риера и Лаврентовича различна. Регулирование частоты колебаний у данных моделей затруднителен. В случае нашей модели регулирование частоты колебаний возможно с помощью параметра V_{PMCA} , а также V_{RyR} . Поэтому, управляя данными параметрами, возможно получить частоту колебаний Лаврентовича и Хемкина (рисунок 9).

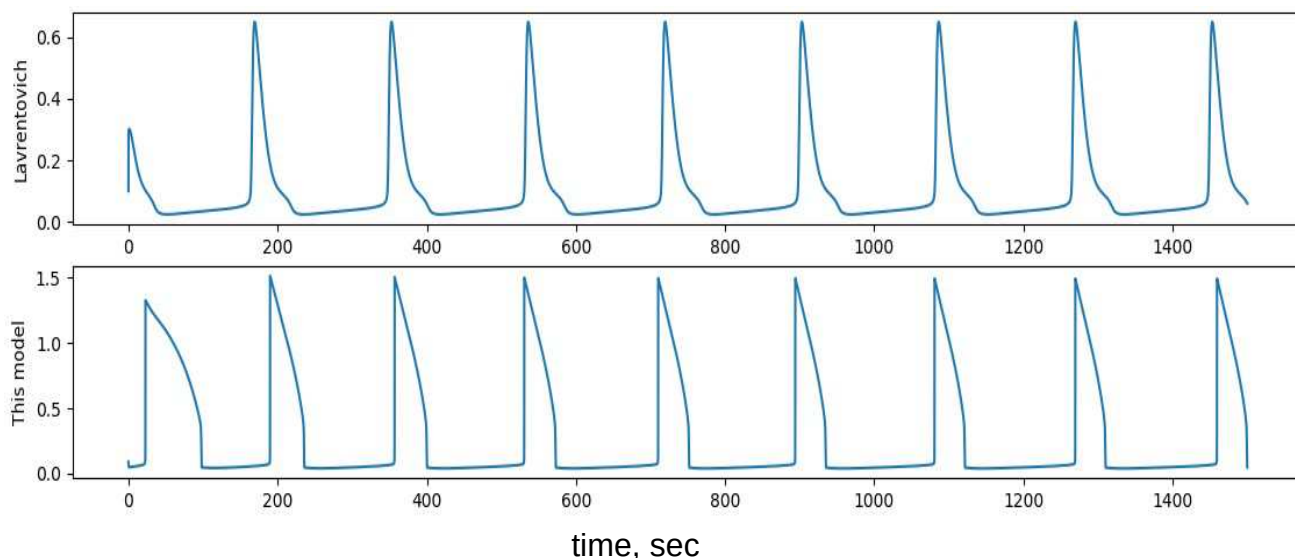


Рисунок 9 - подбор частоты спонтанных осцилляций модели Лаврентовича и Хемкина

Стоит отметить, что в настоящей модели используется вероятностная модель VGCC для входа кальция в цитозоль, а вывод кальция осуществляется через помпу PMCA, что более физиологично, чем в моделях Риера и др., Лаврентовича и Хемкина.

Частоту спонтанных колебаний модели Дюпонта также возможно получить у настоящей модели (рисунок 10).

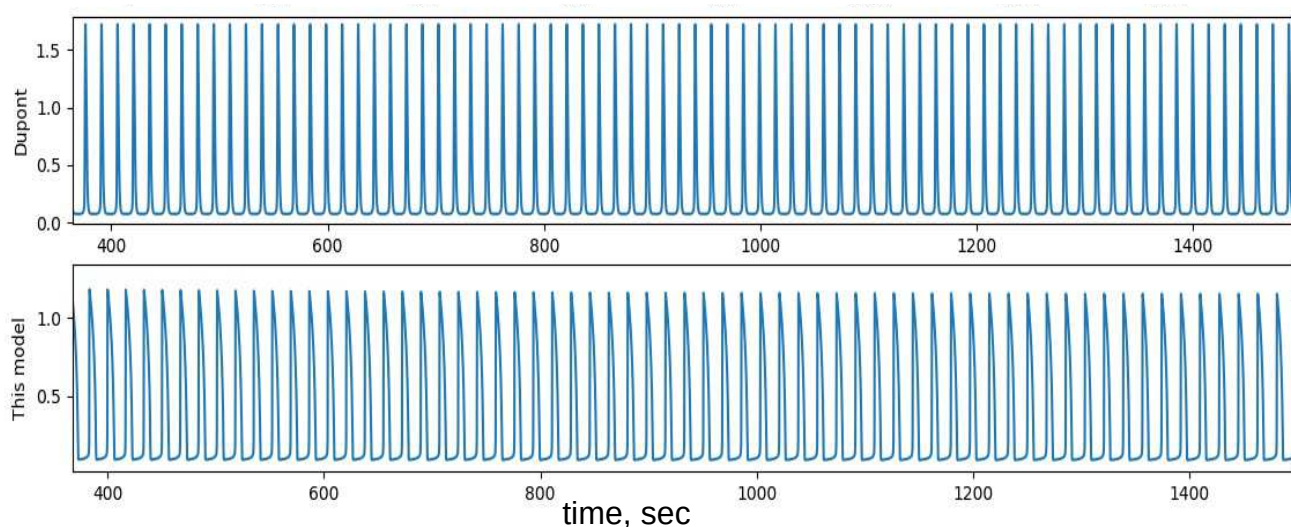


Рисунок 10 - подбор частоты спонтанных осцилляций модели Дюпонта

Во второй группе сравнения результатов моделирования глутаматных стимуляций проводили с моделями Дюпонта, Де Питты и др.. Моделировалось два глутаматных импульса.

При сравнении настоящей модели с моделью Де Питты были «выключены» спонтанные осцилляции кальция в цитозоле. Из рисунка видно, что в настоящей модели меняется характер осцилляций, что связано с внедрением RyR.

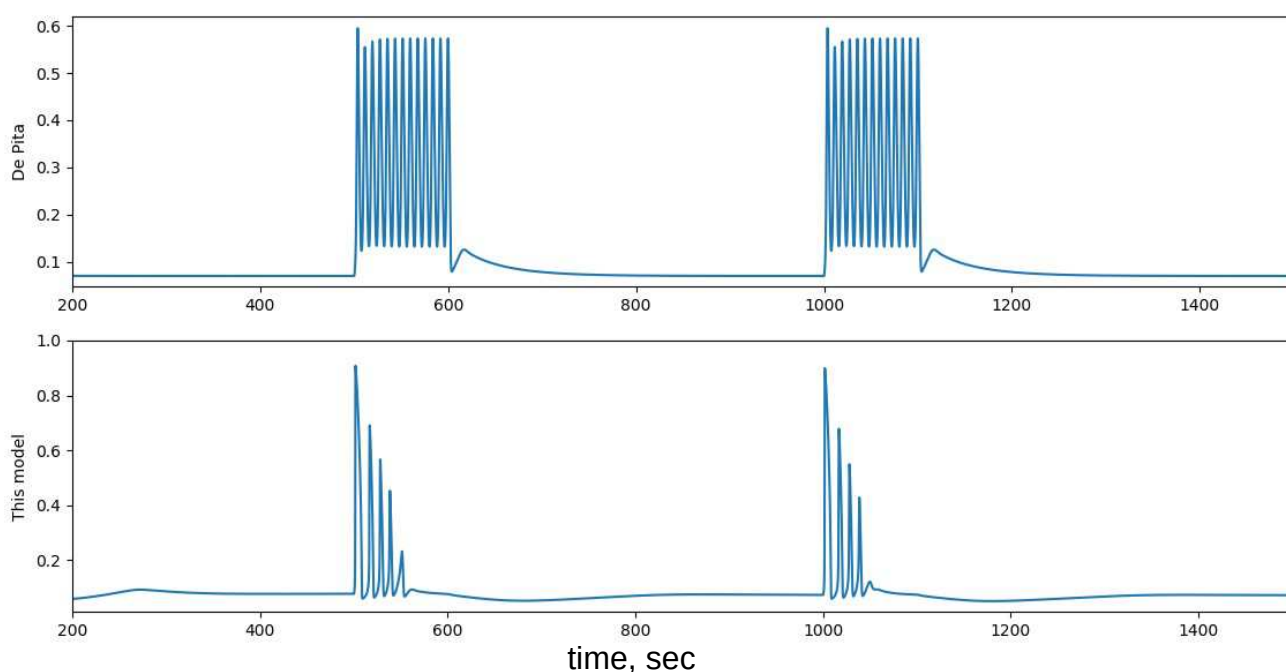


Рисунок 11 - колебания цитозольного кальция при глутаматной стимуляции модели Де Питты и др. и настоящей модели

Настоящая модель устраняет недостатки модели Де Питты и др.: добавлена динамика кальция в ЭПР, поток кальция в цитоплазму и из цитоплазмы.

В модели Дюпонта концентрацию кальция вне глутаматного стимула $[Glu] = 0,01 \mu M$. При подборе частоты спонтанных колебаний модели Дюпонта наша модель повторяет динамику кальция в цитозоли Дюпонта (рисунок 12).

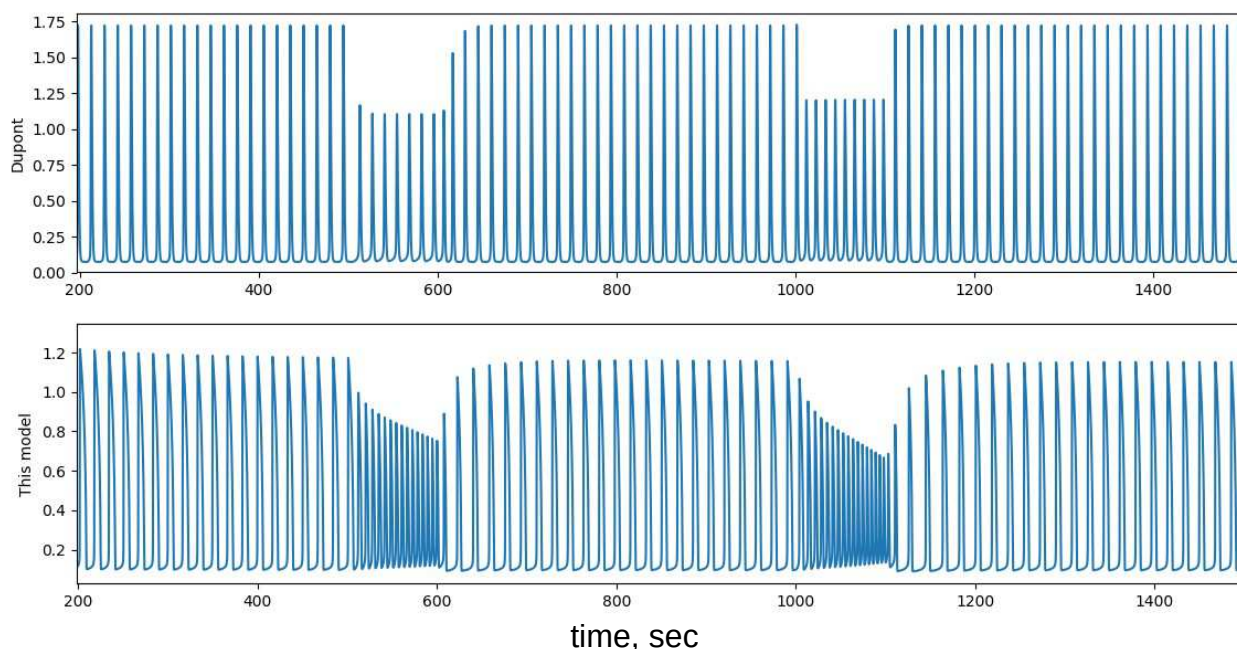


Рисунок 12 - колебания цитозольного кальция при глутаматной стимуляции моделей Дюпонта и настоящей модели с подбором частоты спонтанных колебаний

Таким образом, настоящая модель, в которую заложены более физиологичные механизмы, показывает адекватное поведение. Кроме того, модель позволяет получать результаты других моделей при управлении параметрами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из источников литературы выделены Ca – сигнальные пути астроцита. Определены пути, имеющие больший вклад в общий кальций-сигнальный поток;
2. Составлена математическая модель астроцита с выбранными кальций-сигнальными путями;
3. Включение RyR регуляции позволяет снять противоречия между существующими моделями динамики цитозольного Ca в астроцитах. RyR позволяет оценить эффект глутаматного стимула на спонтанные осцилляции Ca в цитоплазме;
4. Проведено сравнение полученной модели с четырьмя базовыми математическими моделями: совмещение спонтанных осцилляций кальция с осцилляциями от глутаматных стимулов позволило убрать недостатки существующих моделей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Aley P. K. et al. Hypoxia stimulates Ca^{2+} release from intracellular stores in astrocytes via cyclic ADP ribose-mediated activation of ryanodine receptors // *Cell calcium*. – 2006. – Т. 39. – №. 1. – P. 95-100.
2. Bagur R., Hajnóczky G. Intracellular Ca^{2+} sensing: its role in calcium homeostasis and signaling // *Molecular cell*. – 2017. – Т. 66. – №. 6. – P. 780-788.
3. Beck A. et al. Calcium release from intracellular stores in rodent astrocytes and neurons in situ // *Cell calcium*. – 2004. – Т. 35. – №. 1. – P. 47-58.
4. Bennett M. R., Farnell L., Gibson W. G. Origins of blood volume change due to glutamatergic synaptic activity at astrocytes abutting on arteriolar smooth muscle cells // *Journal of theoretical biology*. – 2008. – Т. 250. – №. 1. – P. 172-185.
5. Bennett M. R., Farnell L., Gibson W. G. Origins of the BOLD changes due to synaptic activity at astrocytes abutting arteriolar smooth muscle // *Journal of theoretical biology*. – 2008. – Т. 252. – №. 1. – P. 123-130.
6. Blackburn D. et al. Astrocyte function and role in motor neuron disease: a future therapeutic target? // *Glia*. – 2009. – Т. 57. – №. 12. – P. 1251-1264.
7. Brini M. et al. The plasma membrane calcium pump in health and disease // *The FEBS journal*. – 2013. – Т. 280. – №. 21. – P. 5385-5397.
8. Chander B. S., Chakravarthy V. S. A computational model of neuro-glio-vascular loop interactions // *PloS one*. – 2012. – Т. 7. – №. 11. – P. e48802.
9. De Pittà M. et al. Glutamate regulation of calcium and IP_3 oscillating and pulsating dynamics in astrocytes // *Journal of biological physics*. – 2009. – Т. 35. – №. 4. – P. 383-411.

10. De Young G. W., Keizer J. A single-pool inositol 1, 4, 5-trisphosphate-receptor-based model for agonist-stimulated oscillations in Ca^{2+} concentration //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1992. – T. 89. – №. 20. – P. 9895-9899.
11. Diekman C. O. et al. Modeling the neuroprotective role of enhanced astrocyte mitochondrial metabolism during stroke //Biophysical journal. – 2013. – T. 104. – №. 8. – P. 1752-1763.
12. Ding F. et al. $\alpha 1$ -Adrenergic receptors mediate coordinated Ca^{2+} signaling of cortical astrocytes in awake, behaving mice //Cell calcium. – 2013. – T. 54. – №. 6. – P. 387-394.
13. Dupont G., Lokenye E. F. L., Challiss R. A. J. A model for Ca^{2+} oscillations stimulated by the type 5 metabotropic glutamate receptor: an unusual mechanism based on repetitive, reversible phosphorylation of the receptor //Biochimie. – 2011. – T. 93. – №. 12. – P. 2132-2138.
14. Dupont G. et al. Models of calcium signalling. – Cham, Switzerland : Springer International Publishing, 2016. – T. 43.
15. Farr H., David T. Models of neurovascular coupling via potassium and EET signalling //Journal of theoretical biology. – 2011. – T. 286. – P. 13-23.
16. Fiacco T. A., McCarthy K. D. Astrocyte calcium elevations: properties, propagation, and effects on brain signaling //Glia. – 2006. – T. 54. – №. 7. – P. 676-690.
17. Friel D. D. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ oscillations in sympathetic neurons: an experimental test of a theoretical model // Biophysical journal. – 1995. – T. 68. – №. 5. – P. 1752-1766.
18. Gibson W. G., Farnell L., Bennett M. R. A computational model relating changes in cerebral blood volume to synaptic activity in neurons //Neurocomputing. – 2007. – T. 70. – №. 10-12. – P. 1674-1679.

19. Goto I., Natsume K. The regulation of cell-response heterogeneities induced by astrocytic intracellular enzyme concentration – 2008. - № 48. – p. 161166 (in Japanese).
20. Hadfield J., Plank M. J., David T. Modeling secondary messenger pathways in neurovascular coupling //Bulletin of mathematical biology. – 2013. – T. 75. – №. 3. – P. 428-443.
21. Handy G. et al. Mathematical investigation of IP3-dependent calcium dynamics in astrocytes //Journal of computational neuroscience. – 2017. – T. 42. – №. 3. – P. 257-273.
22. Hasel P. et al. Neurons and neuronal activity control gene expression in astrocytes to regulate their development and metabolism //Nature communications. – 2017. – T. 8. – C. 15132.
23. Hewavitharana T. et al. Role of STIM and Orai proteins in the store-operated calcium signaling pathway // Cell calcium. – 2007. – T. 42. – №. 2. – P. 173-182.
24. Höfer T., Venance L., Giaume C. Control and plasticity of intercellular calcium waves in astrocytes: a modeling approach //Journal of Neuroscience. – 2002. – T. 22. – №. 12. – P. 4850-4859.
25. Kang M., Othmer H. G. Spatiotemporal characteristics of calcium dynamics in astrocytes //Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science. – 2009. – T. 19. – №. 3. – P. 037116.
26. Karimi G. et al. A neuromorphic real-time VLSI design of Ca^{2+} dynamic in an astrocyte //Neurocomputing. – 2018. – T. 272. – P. 197-203.
27. Keizer J., Levine L. Ryanodine receptor adaptation and Ca^{2+} (-) induced Ca^{2+} release-dependent Ca^{2+} oscillations //Biophysical journal. – 1996. – T. 71. – №. 6. – P. 3477-3487.
28. Kenny A., Plank M. J., David T. The role of astrocytic calcium and TRPV4 channels in neurovascular coupling //Journal of computational neuroscience. – 2018. – T. 44. – №. 1. – P. 97-114.

29. Komin N. et al. Multiscale Modeling Indicates That Temperature Dependent [Ca²⁺] // Neural plasticity. – 2015. – T. 2015.
30. Larter R., Craig M. G. Glutamate-induced glutamate release: A proposed mechanism for calcium bursting in astrocytes // Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science. – 2005. – T. 15. – №. 4. – P. 047511.
31. Lavrentovich M., Hemkin S. A mathematical model of spontaneous calcium (II) oscillations in astrocytes // Journal of Theoretical Biology. – 2008. – T. 251. – №. 4. – P. 553-560.
32. Lewis R. S. Store-operated calcium channels: new perspectives on mechanism and function // Cold Spring Harbor perspectives in biology. – 2011. – T. 3. – №. 12. – P. 26.
33. Liu W., Tang F., Chen J. Designing dynamical output feedback controllers for store-operated Ca²⁺ entry // Mathematical biosciences. – 2010. – T. 228. – №. 1. – P. 110-118.
34. Li Y. X., Rinzel J. Equations for InsP₃ receptor-mediated [Ca²⁺] i oscillations derived from a detailed kinetic model: a Hodgkin-Huxley like formalism // Journal of theoretical Biology. – 1994. – T. 166. – №. 4. – C. 461-473.
35. López-Caamal F. et al. Spatial quantification of cytosolic Ca²⁺ accumulation in nonexcitable cells: an analytical study // IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics (TCBB). – 2014. – T. 11. – №. 3. – P. 592-603.
36. Manninen T., Havela R., Linne M. L. Reproducibility and comparability of computational models for astrocyte calcium excitability // Frontiers in neuroinformatics. – 2017. – T. 11. – P. 11.
37. Manninen T. et al. Challenges in reproducibility, replicability, and comparability of computational models and tools for neuronal and glial networks, cells, and subcellular structures // Frontiers in neuroinformatics. – 2018. – T. 12. – P. 22.

38. Manninen T., Havela R., Linne M. L. Computational models for calcium-mediated astrocyte functions // *Frontiers in computational neuroscience*. – 2018. – T. 12. – P. 14.
39. Markiewicz I., Lukomska B. The role of astrocytes in the physiology and pathology of the central nervous system // *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. – 2006. – T. 66. – №. 4. – C. 343-358.
40. Mesiti F. et al. Astrocyte–neuron communication as cascade of equivalent circuits // *Nano Communication Networks*. – 2015. – T. 6. – №. 4. – P. 183-197.
41. Montaseri G., Yazdanpanah M. J. Desynchronization of two coupled limit-cycle oscillators using an astrocyte-inspired controller // *International Journal of Biomathematics*. – 2014. – T. 7. – №. 01. – P. 1450001.
42. Okubo Y. et al. Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor type 2-independent Ca^{2+} release from the endoplasmic reticulum in astrocytes // *Glia*. – 2019. – T. 67. – №. 1. – P. 113-124.
43. Oschmann F. et al. Spatial separation of two different pathways accounting for the generation of calcium signals in astrocytes // *PLoS computational biology*. – 2017. – T. 13. – №. 2. – P. e1005377.
44. Parri H. R., Crunelli V. The role of Ca^{2+} in the generation of spontaneous astrocytic Ca^{2+} oscillations // *Neuroscience*. – 2003. – T. 120. – №. 4. – P. 979-992.
45. Politi A. et al. Models of IP_3 and Ca^{2+} oscillations: frequency encoding and identification of underlying feedbacks // *Biophysical Journal*. – 2006. – T. 90. – №. 9. – P. 3120-3133.
46. Riera J. et al. Modeling the spontaneous Ca^{2+} oscillations in astrocytes: inconsistencies and usefulness // *Journal of integrative neuroscience*. – 2011. – T. 10. – №. 04. – P. 439-473.

47. Riera J. et al. Quantifying the uncertainty of spontaneous Ca^{2+} oscillations in astrocytes: particulars of Alzheimer's disease // *Biophysical journal*. – 2011. – T. 101. – №. 3. – P. 554-564.
48. Roth B. J. et al. A mathematical model of agonist-induced propagation of calcium waves in astrocytes // *Cell calcium*. – 1995. – T. 17. – №. 1. – P. 53-64.
49. Siekmann I. et al. Data-Driven Modelling of the Inositol Trisphosphate Receptor (IP3R) and its Role in Calcium-Induced Calcium Release (CICR) // *Computational glioscience*. – Springer, Cham, 2019. – P. 39-68.
50. Skupin A. et al. How does intracellular Ca^{2+} oscillate: by chance or by the clock? // *Biophysical journal*. – 2008. – T. 94. – №. 6. – P. 2404-2411.
51. Sofroniew M. V., Vinters H. V. Astrocytes: biology and pathology // *Acta neuropathologica*. – 2010. – T. 119. – №. 1. – C. 7-35.
52. Stamatakis M., Mantzaris N. V. Modeling of ATP-mediated signal transduction and wave propagation in astrocytic cellular networks // *Journal of theoretical biology*. – 2006. – T. 241. – №. 3. – P. 649-668.
53. Sterratt D. et al. Principles of computational modelling in neuroscience. – Cambridge University Press, 2011.
54. Stout Jr R. F., Parpura V. Voltage-gated calcium channel types in cultured *C. elegans* CEPsh glial cells // *Cell calcium*. – 2011. – T. 50. – №. 1. – P. 98-108.
55. Takeuchi T., Duszkievicz A. J., Morris R. G. M. The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2014. – T. 369. – №. 1633. – P. 14.

56. Taheri M. et al. Diversity of evoked astrocyte Ca^{2+} dynamics quantified through experimental measurements and mathematical modeling // *Frontiers in systems neuroscience*. – 2017. – T. 11. – P. 79.
57. Tang J., Luo J. M., Ma J. Information transmission in a neuron-astrocyte coupled model // *PLoS One*. – 2013. – T. 8. – №. 11. – P. 11.
58. Toivari E. et al. Effects of transmitters and amyloid-beta peptide on calcium signals in rat cortical astrocytes: Fura-2AM measurements and stochastic model simulations // *PloS one*. – 2011. – T. 6. – №. 3. – P. e17914.
59. Ullah G., Jung P., Cornell-Bell A. H. Anti-phase calcium oscillations in astrocytes via inositol (1, 4, 5)-trisphosphate regeneration // *Cell calcium*. – 2006. – T. 39. – №. 3. – P. 197-208.
60. Wang X., Takano T., Nedergaard M. Astrocytic calcium signaling: mechanism and implications for functional brain imaging // *Dynamic Brain Imaging*. – Humana Press, 2009. – C. 93-109.
61. Witthoft A., Karniadakis G. E. A bidirectional model for communication in the neurovascular unit // *Journal of Theoretical biology*. – 2012. – T. 311. – P. 80-93.
62. Witthoft A., Filosa J. A., Karniadakis G. E. Potassium buffering in the neurovascular unit: models and sensitivity analysis // *Biophysical journal*. – 2013. – T. 105. – №. 9. – P. 2046-2054.
63. Zhao Y. T. et al. Arrhythmogenic mechanisms in ryanodine receptor channelopathies // *Science China Life Sciences*. – 2015. – T. 58. – №. 1. – P. 54-58.
64. Zeng S. et al. Simulation of spontaneous Ca^{2+} oscillations in astrocytes mediated by voltage-gated calcium channels // *Biophysical journal*. – 2009. – T. 97. – №. 9. – P. 2429-2437.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Параметры модели Де Питты и настоящей модели

Параметр	Значение параметра	Единица измерения
<i>Параметры модели VGCC [20]</i>		
z	2	-
T	300	K
F	96485	-
g_T	0,06	pS
g_L	3,5	pS
g_N	0,39	pS
g_R	0,2225	pS
V_{ast}	$5,233 * 10^{-13}$	l
V	-65	mV
Ca_{ex}^{2+}	1500	μM
<i>Параметры модели PMCA [14]</i>		
V_{PMCA}	0,01	$\mu M * s^{-1}$
K_{PMCA}	0,120	μM
<i>Параметры модели RyR [6]</i>		
k_a^{+}	1500	$1/(\mu M^4 * s)$
k_a^{-}	28.8	1/s
k_b^{+}	1500	$1/(\mu M^4 * s)$
k_b^{-}	385.9	1/s
k_c^{+}	1.75	1/s
k_c^{-}	0.10	1/s
$nRyR$	4	-
$mRyR$	3	-
V_{RyR}	10 - 50	1/s
<i>Параметры модели Де Питты [4]</i>		
a_2	0,2	$(\mu M * s)^{-1}$
c_1	0,185	-
d_1	0,13	μM
d_2	1,049	μM
d_3	0,9434	μM
d_5	0,08234	μM
k_{del}	1,5	μM
K_3	1	μM
K_{pi}	0,6	μM
K_d	0,7	μM
K_{er}	0,1	μM
K_p	10	μM
K_{plc}	0,1	μM

K_r	1,3	μM
r_{5P}	0,04	s^{-1}
r_C	6	s^{-1}
r_L	0,11	s^{-1}
V_{3K}	2	$\mu\text{M} \cdot s^{-1}$
V_{beta}	0,2	$\mu\text{M} \cdot s^{-1}$
V_{del}	0,02	$\mu\text{M} \cdot s^{-1}$
V_{er}	0,9	$\mu\text{M} \cdot s^{-1}$
b_{ta}	0,185	$\mu\text{M} \cdot s^{-1}$

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Параметры модели Риера и др.

Параметр	Значение параметра	Единица измерения
a	0.2	$(\mu\text{M}\cdot\text{s})^{-1}$
c ₁	0.185	-
d ₁	0.13	μM
d ₂	1.049	μM
d ₃	0.9434	μM
d ₅	0.082	μM
ε	0.01	-
H _{CCE}	10	μM
J _{in}	0.065	$\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$
K _{IP3}	1.25	s^{-1}
K _{δCa}	0.55	μM
k _{out}	0.5	s^{-1}
K _p	0.1	μM
v ₁	6	s^{-1}
v ₂	0.11	s^{-1}
v _{δ}	0.152	$\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$
V _{SERCA}	0.9	$\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$
X _{CCE}	0.01	$\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$
X _{IP3}	0.43	$\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Параметры модели Лаврентовича и Хемкина

Параметр	Значение параметра	Единица измерения
k_2	0.1	μM
k_{CaA}	0.15	μM
k_{CaI}	0.15	μM
k_{deg}	0.08	s^{-1}
k_f	0.5	s^{-1}
k_{IP3}	0.1	μM
k_{out}	0.5	s^{-1}
k_p	0.3	μM
m	2.2	-
n	2.02	-
J_{in}	0.05	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{M2}	15	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{M3}	40	s^{-1}
V_p	0.05	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$

ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Параметры модели Дюпонта

Параметр	Значение параметра	Единица измерения
α	0.1	-
$b_1 k_i$	$7.5 \cdot 10^{-4}$	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{tot}}$	80	μM
k_1	0.12	s^{-1}
K_A	$5 \cdot 10^{-4}$	μM
K_{A1}	$5 \cdot 10^{-4}$	μM
k_{act}	0.2	s^{-1}
K_{act}	0.34	μM
K_{AD}	0.06	μM
K_{aff}	2	μM^2
k_{des}	0.2	s^{-1}
k_{di}	0.1	μM
k_i	7.5	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
K_l	0.4	μM
k_{i+}	25	$(\mu\text{M}^4 \cdot \text{s})^{-1}$
k_{i-}	$2.5 \cdot 10^{-3}$	s^{-1}
k_l	$2.5 \cdot 10^{-3}$	s^{-1}
K_{DM}	0.012	μM
K_p	0.4	μM
k_{PLC}	1.25	μM
R_{tot}	0.075	s^{-1}
v_0	0.025	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{M1}	0.05	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{MD}	0.0325	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{MP}	2	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$
V_{PKC}	0.2	$\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра медико-биологических систем и комплексов

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

А.Н. Шуваев

« 15 » июня 20 19 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Модель рианодиновой регуляции кальциевого гомеостаза
в астроцитах

03.04.02 Физика

код и наименование направления

03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной медицины и

медицинского оборудования

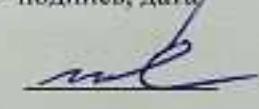
код и наименование магистерской программы

Научный руководитель


подпись, дата

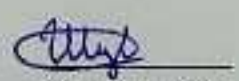
к.ф. – м. н. А. Н. Шуваев

Выпускник


подпись, дата

Я. В. Фрицлер

Рецензент


подпись, дата

к.м.н. А. Н. Шуваев

Красноярск 2019